

Cellules HTR-8/SVneo | 305221

Informations générales

Description

HTR-8/SVneo est une lignée de cellules trophoblastiques humaines dérivées des villosités chorales d'un placenta du premier trimestre, plus précisément d'un embryon âgé de 6 à 12 semaines. Ces cellules ont été immortalisées en les transfectant avec le gène codant pour l'antigène grand T du virus simien 40 (SV40), ce qui prolonge leur durée de vie tout en maintenant les caractéristiques typiques des trophoblastes invasifs extravillositaires. Cette lignée cellulaire exprime plusieurs marqueurs clés associés aux trophoblastes extravilleux, notamment le facteur de croissance analogue à l'insuline II (IGF-II), le NDOG-5, l'antigène nucléaire des cellules proliférantes (PCNA) et une série d'intégrines (sous-unités $\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv et $\beta 1$, ainsi que le récepteur $\alpha v \beta 3 / \beta 5$ de la vitronectine). Elle est négative pour le marqueur macrophagique 63/D3, le marqueur des cellules endothéliales, le facteur VIII, et les sous-unités d'intégrine $\alpha 6$ et $\beta 4$, ce qui confirme sa lignée trophoblastique et la distingue d'autres types de cellules telles que les macrophages et les cellules endothéliales.

Les cellules HTR-8/SVneo sont largement utilisées comme modèle pour étudier l'invasion du trophoblaste et la biologie placentaire, en particulier la transition épithéliale-mésenchymateuse (EMT), qui est cruciale pour le comportement invasif du trophoblaste au cours du développement placentaire. La recherche a montré que ces cellules présentent une population mixte de phénotypes épithéliaux et mésenchymateux, avec la capacité de subir une EMT dans des conditions de culture standard. Cette transition est médiée par la signalisation TGF- β , qui favorise le phénotype mésenchymateux, comme le montre la régulation à la hausse des marqueurs mésenchymateux tels que la vimentine et la régulation à la baisse des marqueurs épithéliaux tels que la E-cadhérine. Cela fait de HTR-8/SVneo un modèle in vitro précieux pour l'étude des mécanismes moléculaires qui sous-tendent l'EMT dans les trophoblastes et ses implications à la fois dans le développement normal du placenta et dans les troubles liés à la grossesse.

Des études ont également démontré que les cellules HTR-8/SVneo peuvent former des sphéroïdes, qui expriment principalement des marqueurs épithéliaux. Lorsque ces sphéroïdes sont replacés en culture 2D, les cellules présentent une évolution vers un phénotype mésenchymateux, indiquant un processus d'EMT en cours. Les propriétés uniques de cette lignée cellulaire, notamment sa réactivité au TGF- β et sa nature mixte épithéliale-mésenchymateuse, permettent de mieux comprendre la dynamique cellulaire complexe de l'invasion du trophoblaste et la régulation du développement placentaire, offrant ainsi une plateforme solide pour l'étude des pathologies liées à la grossesse telles que la pré-éclampsie et le retard de croissance intra-utérin.

Organism Humain

Tissue Trophoblaste, Placenta

Synonyms HTR-8/SV neo, HTR-8/SV-neo, HTR8/SVneo, HTR8svn

Caractéristiques

Age 6-12 semaines fœtales

Gender Non spécifié

Cellules HTR-8/SVneo | 305221**Morphology** Un mélange de cellules épithéliales et mésenchymateuses**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires****Citation** HTR-8/SVneo (numéro de catalogue Cytion 305221)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_7162**GMO Status** OGM-S1 : Cette lignée cellulaire de trophoblaste humain (HTR-8/SVneo) contient une construction SV40 T-Antigen introduite par transfection, permettant l'immortalisation des cellules primaires de trophoblaste. L'insert est intégré de manière stable. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut différer dans d'autres pays.**Données biomoléculaires****Viruses** Virus simien 40 (transfecté avec le plasmide pSV3neo contenant la région précoce du SV40)**Manipulation****Culture Medium** RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Cellules HTR-8/SVneo | 305221

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Cellules HTR-8/SVneo | 305221

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 9,12
D16S539: 11,13
D5S818: 12
D7S820: 12
TH01: 6,9,3
TPOX: 8
vWA: 13,18
D3S1358: 16
D21S11: 29,30
D18S51: 13
Penta E: 7,16,17
Penta D: 9,12
D8S1179: 12,15
FGA: 21,23